

**VACCINE AGAINST TUBERCULOSIS**

**Patent number:** RU2153354  
**Publication date:** 2000-07-27  
**Inventor:** PETROV R V; KHAITOV R M; LITVINOV V I; MOROZ A M; NEKRASOV A V; PUCHKOVA N G; ROMANOVA R JU  
**Applicant:** MO GORODSKOJ N PRAKTICHESKIJ T  
**Classification:**  
- international: **A61K39/04; A61P31/06; A61K39/04; A61P31/00;**  
(IPC1-7): A61K39/04; A61P31/06  
- european:  
**Application number:** RU19990106529 19990331  
**Priority number(s):** RU19990106529 19990331

**Report a data error here**

**Abstract of RU2153354**

medicine, phthisiology. **SUBSTANCE:** invention relates to vaccine against tuberculosis used for tuberculosis prophylaxis. Vaccine is a mixture of Triton extract (glycopeptide) of mycobacterium cell walls (bacille Calmette-Guerin) in the amount 50 mcg with nonspecific immunomodulating agent polyoxydonium in the amount 1-6 mg in a single dose 0.5 ml. Vaccine can be used in cases when use of live vaccine is undesirable. **EFFECT:** high immunogenicity and other properties of vaccine that are comparable with that of live vaccine. 3 tbl

---

Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide



(19) **RU** <sup>(11)</sup> **2 153 354** <sup>(13)</sup> **C1**  
(51) МПК<sup>7</sup> **A 61 K 39/04, A 61 P 31/06**

РОССИЙСКОЕ АГЕНТСТВО  
ПО ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

**(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

(21), (22) Заявка: 99106529/14, 31.03.1999  
(24) Дата начала действия патента: 31.03.1999  
(46) Дата публикации: 27.07.2000  
(56) Ссылки: GB 2239246 A, 26.06.1991. US 5776465 A, 07.07.1998. WO 91/12019 A1, 22.08.1991. WO 98/39025 A3, 11.09.1998. WO 95/01441 A3, 12.01.1995. WO 94/02508 A2, 03.02.1994. HARDHAM and JAMES, MICROBIOL LETTERS, 1980, N 13, pp.33-42.  
(98) Адрес для переписки:  
107014, Москва, ул. Стромынка 10, Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом

(71) Заявитель:  
Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом  
(72) Изобретатель: Петров Р.В., Хаитов Р.М., Литвинов В.И., Мороз А.М., Некрасов А.В., Пучкова Н.Г., Романова Р.Ю.  
(73) Патентообладатель:  
Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом, ГНЦ - Институт иммунологии, Петров Рэм Викторович, Хаитов Рахим Мусаевич, Литвинов Виталий Ильич

(73) Патентообладатель (прод.):  
Мороз Аркадий Максович, Некрасов Аркадий Васильевич, Пучкова Наталья Григорьевна, Романова Римма Юрьевна

**(54) ВАКЦИНА ПРОТИВ ТУБЕРКУЛЕЗА**

(57) Реферат:  
Изобретение относится к медицине, а именно к вакцине против туберкулеза, применяемой для профилактики туберкулеза. Сущность изобретения состоит в том, что вакцина представляет собой смесь тритонового экстракта (гликопептид) клеточных стенок микобактерий БЦЖ в количестве 50 мкг с неспецифическим

иммуномодулятором полиоксидонием в количестве 1 - 6 мг в одной дозе 0,5 мл. Преимущество изобретения состоит в том, что она имеет высокую иммуногенность и другие свойства, сравниваемые с живой вакциной БЦЖ, но может применяться в тех случаях, когда применение живой вакцины нежелательно. 3 табл.



(19) **RU** <sup>(11)</sup> **2 153 354** <sup>(13)</sup> **C1**  
(51) Int. Cl.<sup>7</sup> **A 61 K 39/04, A 61 P 31/06**

RUSSIAN AGENCY  
FOR PATENTS AND TRADEMARKS

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21), (22) Application: 99106529/14, 31.03.1999

(24) Effective date for property rights: 31.03.1999

(46) Date of publication: 27.07.2000

(98) Mail address:  
107014, Moskva, ul. Stromynka 10, Moskovskij  
gorodskoj nauchno-prakticheskij tsentr  
bor'by s tuberkulezom

(71) Applicant:  
Moskovskij gorodskoj nauchno-prakticheskij  
tsentr bor'by s tuberkulezom

(72) Inventor: Petrov R.V.,  
Khaitov R.M., Litvinov V.I., Moroz A.M., Nekrasov  
A.V., Puchkova N.G., Romanova R.Ju.

(73) Proprietor:  
Moskovskij gorodskoj nauchno-prakticheskij  
tsentr bor'by s tuberkulezom,  
GNTs - Institut immunologii,  
Petrov Rehm Viktorovich,  
Khaitov Rakhim Musaevich,  
Litvinov Vitalij Il'ich

(73) Proprietor (cont.):  
Moroz Arkadij Maksovich, Nekrasov Arkadij Vasil'evich, Puchkova Natal'ja Grigor'evna, Romanova Rimma  
Jur'evna

(54) **VACCINE AGAINST TUBERCULOSIS**

(57) Abstract:

FIELD: medicine, phthisiology. SUBSTANCE:  
invention relates to vaccine against  
tuberculosis used for tuberculosis  
prophylaxis. Vaccine is a mixture of Triton  
extract (glycopeptide) of mycobacterium cell  
walls (bacille Calmette-Guerin) in the  
amount 50 mcg with nonspecific

immunomodulating agent polyoxydonium in the  
amount 1-6 mg in a single dose 0.5 ml.  
Vaccine can be used in cases when use of  
live vaccine is nondesirable. EFFECT: high  
immunogenicity and other properties of  
vaccine that are comparable with that of  
live vaccine. 3 tbl

Изобретение относится к медицине, в частности, для профилактики туберкулеза.

В настоящее время с целью профилактики туберкулеза используется живая ослабленная вакцина БЦЖ, однако, у этой вакцины имеются негативные свойства, характерные главным образом для живых вакцин, - остаточная вирулентность, возможность усиления вирулентности штамма и передозировки вакцины, а также ее аллергизирующие свойства. Кроме того, мировой опыт показывает, что эффективности ВСС недостаточно, чтобы добиться глобальных изменений заболеваемости туберкулезом (1). Поэтому все большее внимание уделяется убитым химическим и рекомбинантным вакцинам, разрабатываемым на основе микобактериальных антигенов.

Такие вакцины необходимы в тех случаях, когда вакцинация живой вакцины БЦЖ нежелательна.

Ведутся многочисленные работы по получению микобактериальных антигенов, обладающих протективным действием. В результате получено несколько препаратов микобактериальных антигенов, обладающих выраженными протективными свойствами, хорошо стандартизирующихся, стабильных при хранении, с наименьшей степенью аллергизирующего действия (2). Из антигенов, выделенных из микобактерий химическим путем, защитными свойствами обладали в основном гликопротеиды (3), полисахаридомиколовый комплекс, по химическому составу близкородственный воску Д микобактерий, который защищал морских свинок и мышей от туберкулеза после предварительного введения им препарата в минеральном масле (4).

В настоящее время в качестве живых противотуберкулезных вакцин предлагаются модифицированные вакцины БЦЖ, у которых в качестве "эндогенных адъювантов", усиливающих эффективность вакцинации, предполагается ввести гены, кодирующие ряд цитокинов или иммунодоминантные антигены (5) и другие.

В качестве неживых убитых и наиболее перспективных предлагается использовать субъединичные вакцины, приготовленные из белков, липидов и полисахаридов культурального фильтрата или клеточных стенок *M. tuberculosis*. В таких субъединичных вакцинах глико-липо-протеины должны быть использованы совместно с адъювантом, который необходимо протестировать на возможность и безопасность использования у человека (6).

Однако все убитые вакцины, содержащие микобактериальные антигены, обладают невысоким иммунизирующим и защитным действием. Недостатком такого типа вакцин является использование в качестве адъювантов квиллов, сапонинов, ланолиновых и других минеральных масел, которые являются слабыми адъювантами и обладают аллергизирующим действием.

Новые адъюванты - полиэлектролиты (ПЭ), разработанные В.А. Кабановым, Р. В. Петровым и Р.М. Хаитовым (7), представляют собой искусственные карбоцепные полимеры, удерживающие антиген на иммунокомпетентной клетке.

В водных растворах они приобретают множественные электрические заряды и, являясь полиионами, образуют комплексы с белками. Важным свойством комплексов антигенов с ПЭ оказалось резкое повышение иммуногенной активности слабого антигена в результате соединения с ними и, в частности, с полиоксидонием.

Примером вакцины нового типа является противогриппозная вакцина - гриппол (8).

Задача изобретения заключается в разработке убитой вакцины против туберкулеза, содержащей антигены клеточных стенок туберкулезных микобактерий (гликопептид), выделенных с помощью детергента тритона X-100, конъюгированных с адъювантом нового типа - полиоксидонием.

Сущность изобретения состоит в том, что вакцина против туберкулеза представляет собой тритоновый экстракт (гликопептид) клеточных стенок микобактерий БЦЖ в количестве 50 мкг и 1-6 мг неспецифического иммуномодулятора полиоксидония в 1 дозе 0,5 мл.

Технический результат изобретения заключается в повышении протективной активности данного препарата.

Вакцина представляет собой порошок белого цвета, находится во флаконе и содержит 50 мкг тритонного экстракта (гликопептида) клеточных стенок микобактерий вакцинного штамма БЦЖ и 1-6 полиоксидония. Препарат разводят в 0,5 мл физиологического раствора и вводят подкожно в область плеча.

Специфическая часть препарата ВПТ тритоновый экстракт (гликопептид) клеточных стенок микобактерий БЦЖ получена в результате обработки клеточных стенок неионным детергентом тритоном X - 100, как описано в авторском свидетельстве на изобретение N 1672368 от 22.IV.1991 г., патент N 1672368 от 1993 г.

Иммуностимулирующий и пролонгирующий носитель - полиоксидоний разрешен для применения в качестве носителя для антигенов в структуре конъюгированных вакцин, представляющих собой ковалентные конъюгаты "антиген - полимер" (ВФС 42-2726-96 и ВФС 42-2727-96). Обе субстанции, составляющие препарат, соединены между собой ковалентными связями в единый комплекс.

Вакцина изготавливается следующим образом.

Перед дезинтеграцией микобактерии асептично отфильтровывали от жидкой питательной среды на воронке Бюхнера, несколько раз промывали дистиллированной водой и высушивали под вакуумом. Подготовленная таким образом бактериальная масса в день сбора использовалась для разрушения.

Разрушали полувлажную массу микобактерий при  $t \ 4^{\circ}\text{C}$  механически: размалыванием, растиранием или сублимацией в зависимости от конечной цели фракционирования.

Для выделения клеточных оболочек 4 г полувлажного веса микобактерий соединяли с равным количеством микробус "баллотини" в 4 мл трис-HCl - буфера, разрушали размалыванием в дезинтеграторе типа Mikl, со скоростью вибрации 5000 об/мин.

Наибольший выход клеточных стенок (100%) был достигнут разрушением микобактерий в течение 2-х часов с 20-минутным циклом работы при  $t = 4^{\circ}\text{C}$ . Подбор условий дезинтеграции представлен в таблице 1.

При этом способе дезинтеграции микобактерии разрушаются с обоих концов или посередине и представляют собой полые "чехлы" клеток, лишенные цитоплазмы. Недостатком такого способа разрушения являются невысокая пропускная способность данного аппарата. Поэтому для дезинтеграции большого количества микобактерий использовали методы механического растирания пестиком в фарфоровой ступке. 30 г полувлажной массы микобактерий соединяли с 30 г стеклянного песка и растирали в течение 1 часа с цикличностью по 20 мин с 10-минутным перерывом.

Клеточные стенки получали по методу E. Ribi. Центрифугированием гомогената при 2500 об/мин в течение 20 мин осаждали неразрушенные клетки. Из надосадочной жидкости при 15000 об/мин в течение 1 часа осаждали клеточные стенки. Надосадочная жидкость представляла собой цитоплазму. Далее осадок клеточных стенок обрабатывали 0,5% раствором твина-80 в течение 18-20 часов при  $t = 4^{\circ}\text{C}$  для растворения цитоплазматических субстанций. С этой же целью, а также для удаления оставшихся неразрушенных клеток и крупных оболочечных конгломератов фракцию снова осаждали, промывали физраствором и обрабатывали 1M NaCl.

Выделение растворимых белоксодержащих антигенов из клеточных стенок проводили обработкой их детергентом тритоном X-100 по J. Harris. Есть несколько подходов к растворению мембран. В результате действия на мембраны высокой концентрации солей, буферов с низкой ионной силой, хелатов, протеолитических ферментов в раствор переходят, как правило, непрочные связанные мембранные компоненты или фрагменты молекул, отщепляемые ферментами. При обработке клеточных мембран поверхностно-активными веществами-детергентами разрушаются гидрофобные связи белков с липидами или белков с белками и в раствор переходят, как правило, интактные молекулы белков и гликопротеинов. Каким бы ни был способ растворения мембран, антигенность выделенных компонентов должна быть сохранена, что и обеспечивается воздействием на клеточную стенку неионного детергента тритона X-100, который представляет собой полиатомный спирт с большим количеством гидроксильных групп. Имея большое сродство к липидам, молекулы тритона X-100 встраиваются в мембрану на место молекул липидов, образуя комплексы с белками. Большое количество гидроксильных OH-групп, принесенных тритоном X-100, окружают белки и делают их растворимыми, сохраняя глобулярную структуру. В результате образуется растворимая фракция гликопротеидов клеточных оболочек (ТЭ). Предварительное обезжиривание клеточных стенок охлажденной смесью 2 объемов хлороформа с 1 объемом метанола в течение 2-х часов убирает часть липидной матрицы и помогает наибольшему выходу мембранных

гликопротеидов.

Выделение тритонного экстракта из клеточной стенки БЦЖ.

В работе использован аттенуированный вакцинный штамм *M. bovis* BCG - московский субштамм.

Для выделения антигенов *M. bovis* BCG выращивали на жидкой синтетической среде Souton, содержащей одну аспарагиновую кислоту, при  $t = 37,5^{\circ}\text{C}$  и собирали в логарифмической фазе через 14 суток.

Получение клеточных стенок:

1) получение гомогената микобактерий (по E. Ribi и соавт., 1975); промытую от культуральной среды полувлажную бактериальную массу 30 г соединяли с 30 г стеклянного песка и растирали в течение 20 минут с цикличностью 10 мин с 15-минутным перерывом;

2) гомогенат подвергали ступенчатому дифференциальному центрифугированию: при 1500 об/мин, в течение 20 мин. Осаждали стеклянный песок и неразрушенные клетки и затем из надосадочной жидкости при 12000 об/мин осаждали в течение 30 мин клеточные стенки;

3) очистку фракции клеточных стенок от цитоплазматических субстанций проводили путем обработки их в течение 18-20 ч, при  $t = 4^{\circ}\text{C}$  0,5% раствором твина-80. Далее фракцию снова осаждали, промывали физиологическим раствором в течение 1 часа 1 M NaCl и промывали дистиллированной водой; полученную чистую фракцию клеточных стенок контролировали под электронным микроскопом (увеличение  $\times 90000$ ) и сохраняли при  $-40^{\circ}\text{C}$  или лиофилизировали.

Получение тритонного экстракта проводили по методу J. Harris и соавт. (1968) с некоторыми изменениями (авт. свидетельство 6762368 от 1993). Предварительно обезжиренные смесью хлороформа с этанолом клеточные стенки экстрагировали с 13% тритоном X-100, затем центрифугировали. Из надосадка с помощью ацетона выделяли гликопептиды клеточных стенок, которые осаждали путем центрифугирования. Высушенный осадок делипидировали с помощью эфира. Затем растворили в физиологическом растворе, центрифугировали и в надосадке получали тритонный экстракт, который лиофилизировали.

Для получения 100 доз комплексированной формы нового противотуберкулезного препарата на основе антигенного комплекса тритонного экстракта клеточных стенок БЦЖ и полиоксидония (по 1 дозе в 0,5 мл). К 600 мг полиоксидония (П) добавляли 45 мл дистиллированной воды при  $t +40^{\circ}\text{C}$  в течение 30 минут. К раствору П медленно, по каплям, при перемешивании добавляли раствор тритонного экстракта (ТЭ) клеточных стенок БЦЖ в фосфатном буфере pH-7,3 в количестве 5 мл с содержанием белка 50 мкг в 0,5 мл. Продолжительность реакции при помешивании составляла 24 часа.

Формула ТЭ-П:

на 1 дозу: в 0,5 мл: 6 мг П + 50 мкг ТЭ (белка)

на 100 доз: в 50 мл: 600 мг П в 45 мл + 5 мг белка ТЭ в 5 мл.

Результаты проведенного

экспериментального доклинического испытания вакцины против туберкулеза позволяют рекомендовать данный препарат для лечения больных туберкулезом легких.

Проведено 2 эксперимента на мышах линии СВА, самцах весом 20 г по 20 животных в группе.

#### Эксперимент 1:

Изучение токсических свойств и иммунологической реактивности ВПТ.

1.1. Изучено токсическое действие препарата ВПТ на здоровых мышах. Одноразовое внутривенное введение препарата ВПТ, содержащего ТЭ как в последующих дозах: 50 мкг, 100 мкг, так и больших дозах - 200 мкг, 400 мкг и 500 мкг, соединенный с 1 мг полиоксидония, не вызывало гибели животных. Мыши оставались живы в течение всего времени наблюдения - до 1 месяца.

Проведено патоморфологическое исследование органов (печени, селезенки, легких и лимфоузлов) мышей, вакцинированных препаратом ВПТ, содержащим разные дозы тритонового экстракта клеточных стенок (ТЭ) на предмет токсического и иммуностимулирующего действия на клеточном уровне. Токсическое действие на клетки печени оказывает препарат ВПТ, содержащий 500 и 400 мкг ГКС. Оно выражалось в белковой дистрофии цитоплазмы гепатоцитов, переваскулярном отеке и высокой проницаемости сосудов, которые развивались через 1 неделю после введения, сохранялись в течение 1 месяца и стихали через 1,5-2 месяца. Препарат ВПТ в дозе 200 мкг - ГКС вызывал меньше токсическое действие, выражавшееся в набухании белков цитоплазмы клеток, очагового характера и небольшом переваскулярном отеке. Такая реакция была зарегистрирована через 1 неделю после введения препарата и стихала через 3 недели.

Препарат ВПТ в дозе 100 мкг (ТЭ) и 50 мкг не оказывал токсического действия на клетки печени. Лишь в отдельных клетках наблюдалось ограниченное набухание белков цитоплазмы клеток, выявляемое через 1 неделю, которое полностью исчезало через 3 недели.

#### 1.2. Иммунологическая реактогенность ВПТ.

На вакцинированных морских свинках изучено аллергизирующее действие препарата, в/венное введение ВПТ, содержащего 50 и 100 мкг ТЭ, ни в одном случае не вызывало анафилактических реакций как немедленного типа, так и через 12, 24 и 48 часов.

Кожная активность ВПТ. Внутривенное введение препарата ВПТ в данных дозах вакцинированным морским свинкам вызывало развитие слабых точечных (не более 5-6 мм) кожных гиперерических реакций.

При исследовании аутоантител у мышей, вакцинированных ВПТ, содержащей дозы ТЭ 50, 100, 200 и 500 мкг, было проведено через 7 дней, 14 дней, 1 месяц и 2 месяца после вакцинации. Ни в одном случае не были выявлены аутоантитела к ДНК, коллагену, ткани легкого, печени, почек, общему белку миеллина (использованы коммерческие тест-системы ИФА).

#### 1.3. Канцерогенным действием препарат

ВПТ не обладает, т.к. известно, что микобактерии БЦЖ, из которых он приготовлен, используются для лечения злокачественных опухолей.

1.4. Тератогенные свойства препарата ВПТ также отсутствуют, т.к. вакцина БЦЖ многие годы используется для вакцинации детей и взрослых.

1.5. Иммуностимулирующее действие препарата ВПТ, через 3 недели после вакцинации в селезенке выявлены крупные фолликулы с реактивными центрами, пролиферация Т и В лимфоцитов, которые заполняли синусы, отмечался выход лимфоидных элементов в кровь и инфильтрация ими легочной ткани, обильная инфильтрация междольвеоларных перегородок.

Таким образом, на основании эксперимента на мышах были определены дозы, не вызывающие токсического действия и проявляющее иммунологическую реактивность у мыши весом 20 г. Наиболее оптимальными, не вызывающими токсического действия, явились дозы в 50 и 100 мкг сухого гликопептида, соединенные с 1 мг полиоксидония.

2. Во втором эксперименте изучено защитное действие вакцины против туберкулеза.

Вакцина апробирована в эксперименте на 150 мышах

Эксперимент проводился на 7 группах мышей по 20 животных в группе, которые получали:

1 гр. - 100 мкг ТЭ+1 мг полиоксидония однократно

2 гр. - 50 мкг ТЭ + 1 мг полиоксидония 2 раза через неделю

3 гр. - 50 мкг ТЭ+ 1 мг полиоксидония однократно

4 гр. - 1 мг полиоксидония однократно

5 гр. - 100 мкг ТЭ однократно

6 гр. - 0,025 БЦЖ

7 гр. - контроль

Через 3 недели заразили мышей вирулентным штаммом M.human. H37Rv в дозе  $2-5 \times 10^5$  бактерий. В результате установлен наибольший эффект при введении 100 мкг ТЭ+1 мг полиоксидония однократно (таблица N 2).

Протективное действие подтверждалось высокими показателями средней продолжительности жизни, (таблица 2), высеваемостью микобактерий из селезенки (таблица N 3) с помощью морфологических исследований.

Таким образом, наибольшим вакцинированным действием обладал препарат ВПТ, содержащий 100 мкг ТЭ (ГКС), который оказался на уровне живой вакцины БЦЖ. Животные этой 1-й группы на неделю дольше прожили, чем зараженные и предварительно не вакцинированные мыши.

Защитное действие препарата подтверждено достоверно более низкой высеваемостью вирулентных микобактерий из селезенки мышей 1-й группы (таблица 3).

Изучение морфологической картины органов мышей различных групп показало, что для животных, иммунизированных ТЭП, независимо от дозы или способа вакцинации, через 3 недели после заражения морфологически была характерна картина напряженного противотуберкулезного

иммунитета, выражающаяся наличием небольших полноценных лимфоцитарно-макрофагальных скоплений в легочной ткани и большим скоплением лимфоцитов в тимус-зависимых зонах лимфатических узлов. В то время для первичного заражения животных в этот период было характерно наличие в легких специфических туберкулезных гранул с признаками начинающего некроза, а также опустошение тимус-зависимых зон лимфатических узлов.

Анализ реакции ГЗТ in vivo (туберкулиновой пробы в подушечку лапки), выполненный в этот же период времени, не выявил существенных различий между группами, если не считать более высокого ответа у животных, получивших БЦЖ.

Таким образом, проведенный комплекс исследований позволяет сделать вывод, что конъюгированная вакцина ТЭ-П обладает рядом основных свойств, позволяющих сделать вывод о перспективности ее применения в практической деятельности, особенно учитывая сравнимость ее эффективности с БЦЖ. Она может быть использована у людей с признаками того или иного иммунодефицита, когда применение живой вакцины нежелательно.

Источники информации

1. Яблокова Т.Б. Противотуберкулезная вакцинация. // Кн.: Иммунология и иммунопатология туберкулеза. М., 1976, стр. 248-266.

2. Tuberculosis vaccine // W 095/01441 A1, 13.01.95, C 12 N 15/31, Ab /K39/04.

3. Романова Р.Ю. Иммуногенные свойства

и диагностическая ценность антигенов микобактерий БЦЖ. Автореферат докторской диссертации, 1992, 48 с.

5 4. Masini K, Brehmer W, Lange W at al. Threhalose dimycolate from various mycobacterial species induced differing anti-infectious activities in combination with muramyl dipeptide // Infect and immun, 1985 / v 50, N 3, p. 938-940.

10 5. Recombinant mycobacterial vaccines // us 5880475A, 3.11.1998.

6. Andersen. Progress towards a TB ebonite vaccine based on extracellular antigens // international J of Tuberculosis and Lung Disease., 1997. - v 1, N 5, suppl 1, p. 6,7.

15 7. Кабанов В.А., Петров Р.В., Хаитов Р.М. Новый принцип создания искусственных иммуногенов // Журнал Всесоюзного химического общества им. Д.И. Менделеева - 1982. - т. XXVII. - с. 57-68, Петров Р.В., Хаитов Р.М., Атауллаханов Р.И. Иммуногенетика и искусственные антигены // М.: Медицина, 1983.

20 8. Ельцина Г.А., Корбунов М.А., Некрасов А.В., Пучкова Н.Г. и др. Оценка эффективности гриппозной трехвалентной вакцины полимерсубъединичной вакцины гриппол // ЖМЭИ, 1998, N 3, стр. 40-43.

#### Формула изобретения:

30 Вакцина против туберкулеза, отличающаяся тем, что она представляет собой тритоновый экстракт (гликопептид) клеточных стенок микобактерий БЦЖ в количестве 50 мкг и 1-6 мг неспецифического иммуномодулятора полиоксидония в 1 дозе 0,5 мл.

35

40

45

50

55

60

Таблица 1

Подбор оптимальных параметров скорости и времени вибрации для наибольшего разрушения микобактерий

Скорость вибрации об/мин	Время вибрации В мин.	Число неразрушенных микобактерий на 1000 клеточных оболочек
6000	20	550
2500	20	500
5000	20	250
5000	40	150
5000	60	110
5000	80	50
5000	100	30
5000	120	5-0

Таблица 2

Срок выживаемости иммунизированных мышей, зараженных микобактериями туберкулезом H37Rv

№ группы	Анализируемые группы мышей	Время выживания мышей (дни)	Статистический анализ между группами ( $P < 0,05$ )
1.	100 мкг ТЭ-П	$37,8 \pm 2,1$	$P_{1-4} < 0,05$ ; $P_{1-6} < 0,05$
2.	50 мкг ТЭ-П	$38,4 \pm 1,9$	$P_{2-4} < 0,05$ ; $P_{2-6} < 0,05$
3.	50+50 мкг ТЭ-П	$37,5 \pm 2,3$	$P_{3-4} < 0,05$ ; $P_{3-6} < 0,05$
4.	Полиоксидоний	$31,3 \pm 2,4$	$P_{4-6} < 0,05$
5.	БЦЖ	$35,1 \pm 2,1$	$P_{5-6} < 0,05$
6.	Зараженные мыши	$26,7 \pm 1,6$	

Таблица 3

Высеваемость микобактерий из селезенки иммунизированных мышей, зараженных микобактериями туберкулезом H37Rv

№ группы	Анализируемая группа мышей	Высеваемость микобактерий туберкулеза из селезенки (КОЗ)	Статистический анализ ( $P < 0,05$ )
1.	100 мкг ТЭ-П	$1,4 \pm 0,3 \times 10^7$	$P_{1-4} < 0,05$ $P_{1-5} < 0,05$ $P_{1-6} < 0,05$
2.	50 мкг ТЭ-П	$2,0 \pm 0,6 \times 10^7$	$P_{2-4} < 0,05$ $P_{2-6} < 0,05$
3.	50 + 50 мкг ТЭ-П	$2,6 \pm 0,1 \times 10^7$	$P_{3-4} < 0,05$ $P_{3-6} < 0,05$
4.	Полиоксидоний	$4,8 \pm 0,6 \times 10^7$	
5.	БЦЖ	$2,9 \pm 0,4 \times 10^7$	$P_{5-6} < 0,05$
6.	Первично зараженные мыши	$6,7 \pm 1,0 \times 10^7$	